

## MEFENTRIFLUKONAZOL - NOVI FUNGICID IZ GRUPE TRIAZOLA

**Nađa Milutinović, Milan Stević, Bojana Špirović Trifunović, Dragica Brkić**

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Email: nadjaamilutinovic10@gmail.com

### Izvod

Mefentriflukonazol je nova aktivna supstanca sa fungicidnim delovanjem, koja pripada izopropanol azolima, novoj podgrupi u okviru hemijske grupe triazola. Inhibira biosintezu sterola i odlikuje se veoma selektivnim delovanjem. Sistemični je fungicid sa protektivnim, kurativnim i eradikativnim delovanjem i koristi se za suzbijanje značajnih patogena strnih žita (*Septoria* spp., *Puccinia* spp., *Ramularia collo-cygni*, *Rhynchosporium secalis*). Za razliku od većine triazola, povučeni iz primene u poslednje 2-3 godine, uglavnom zbog reprotoksičnog i karcinogenog delovanja, mefentriflukonazol ne deluje karcinogeno, genotoksično ni reprotoksično. Takođe, nije akutno toksičan, ne iritira kožu i oči i ne izaziva specifičnu toksičnost za ciljne organe posle jednokratne ili višekratne izloženosti. U dodiru sa kožom može izazvati senzibilizaciju i to je jedino toksikološko svojstvo na osnovu koga je klasifikovan i obeležen. Akutna i hronična dijetarna izloženost svih populacionih grupa ovoj aktivnoj supstanci je niska, sa velikom marginom bezbednosti. Mefentriflukonazol nije akutno oralno i kontaktno toksičan za pčele i nije toksičan za kišne gliste. Za akvatične organizme, ribe, beskičmenjake i alge je veoma toksičan akutno i hronično, dok je za organizme sedimenta i akvatične makrofite toksičan. Povoljna toksikološka svojstva mefentriflukonazola i dobra efikasnost preporučuju ovu aktivnu supstancu kao dobru zamenu za triazole povučene iz primene.

**Ključne reči:** mefentriflukonazol, triazoli, strna žita, testovi toksičnosti, rizik

### UVOD

Hemijska jedinjenja imaju dugu istoriju učešća u zaštiti bilja, pri čemu se fungicidi koriste više od 200 godina za suzbijanje bolesti prouzrokovanih fitopatogenim gljivama i pseudogljivama (Brent i Hollomon, 2007). Inhibitori biosinteze sterola (SBI) pojavili su se u poljoprivrednoj praksi od druge polovine šezdesetih godina prošlog veka, kada je veći broj fungicida iz hemijskih grupa imidazola, morfolina, pirimidina, piridina, piperazina, triazola i piperidina, a kasnije i

hidroksianilida i spiroketal-amina, patentirano od strane različitih agrohemijjskih kompanija (Ishii i Hollomon, 2015). Sintetisanje novih aktivnih supstanci pesticida je kontinuiran proces neophodan iz više razloga; pre svega zbog prevazilaženja problema rezistentnosti štetnih organizama na postojeće pesticide, postizanja veće efikasnosti u njihovom suzbijanju i smanjenja rizika za ljude i životnu sredinu. Mefentriflukonazol je nova aktivna supstanca sa fungicidnim delovanjem, razvijena od strane kompanije Badische Anilin und Soda Fabrik (BASF). Pripada inhibitorima biosinteze sterola, hemijskoj grupi triazola i novoj podgrupi u okviru triazolnih fungicida, izopropanol azola.

Trenutno se širom sveta široko koriste različite vrste pesticida za dobijanje kvalitetnijih poljoprivrednih proizvoda i povećanje prinosa useva, donoseći tako značajne ekonomske koristi. Upotreba pesticida u savremenoj poljoprivredi značajno je povećala produktivnost, ali je to takođe povećalo njihovo prisustvo životnoj sredini i uslovalo pojavu ostataka u hrani i hrani za životinje, uz potencijalne negativne efekte na zdravlje ljudi i drugih neciljnih organizama. Zabrinutost zbog potencijalnog rizika po zdravlje ljudi i životinja zbog upotrebe pesticida konstantno raste, a sve veći broj studija dovodi pesticide u vezu sa različitim patološkim promenama, uključujući metaboličke bolesti, poremećaj regulacije imunog sistema, neurotoksičnost, promene rada endokrinog sistema, reproduktivne poremećaje, pojavu karcinoma (Tago i sar., 2014). Ovi zdravstveni efekti su različiti u zavisnosti od izloženosti ali generalno ona može doprineti sve većoj prevalenciji zdravstvenih poremećaja (Wohlfahrt-Veje i sar., 2009). Posebna pažnja se posvećuje izloženosti operatera i poljoprivrednih radnika, ali i ostalih kategorija koji su svakodnevno izloženi preko ostataka u hrani i vodi za piće (Tago i sar., 2014).

Upotreba i zakonska regulativa pesticida su dugo bile, ali i ostale, kontroverzne. Rejčel Karson (Rachel Carson) je čuvenim „Tihim prolećem” (1962) skrenula pažnju svetske javnosti na rizike povezane sa dihlordifeniltrihloretanom (DDT) i drugim organohlorinim insekticidima, nakon čega je usledilo povlačenje ove grupe pesticida iz primene. Mada postoje i mnogi drugi primeri zabrane pesticida, a broj povučenih iz primene više je nego dva puta veći od broja odobrenih na nivou Evropske unije (EU), i dalje se stotine aktivnih supstanci pesticida koristi širom sveta, sa potencijalnim rizikom po zdravlje ljudi i neželjenim efektima na ekosisteme.

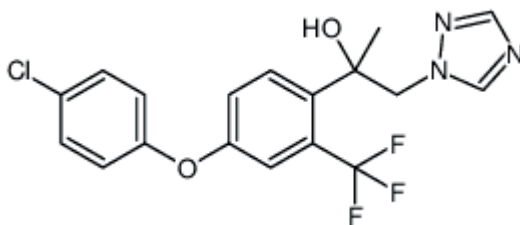
Sva ova zapažanja ukazuju na neophodnost dobrog poznavanja pesticida, posebno njihovih toksikoloških i ekotoksikoloških svojstava. Za fungicide iz grupe triazola nije poznat mehanizam delovanja na sisarima, ali se smatra da toksični efekti nastaju kao posledica oslobađanja dopamina iz striatuma (Hollister i sar., 1974., Walker i sar., 1990., Santana i sar., 2009). Iako se ova jedinjenja intenzivno koriste već više od četiri decenije, nisu registrovani slučajevi ozbiljnih akutnih trovanja ljudi. Međutim, njihova reprotoksičnost, karcinogenost i specifična tok-

sičnost za ciljne organe posle jednokratne ili višekratne izloženosti, dovela je do povlačenja više aktivnih supstanci iz ove grupe u poslednje 2-3 godine. Mefentriflukonazol je nova aktivna supstanca iz ove grupe, stavljena u promet u martu 2019. godine, u skladu sa Regulativom 1107/2009 sa statusom regulisanim do marta 2029. godine. Povoljna toksikološka svojstva, pre svega odsustvo karcinogenog, genotoksičnog i reprotoksičnog delovanja i dobra efikasnost, odlične su preporuke za buduću primenu u zaštiti bilja.

## OSNOVNA SVOJSTVA MEFENTRIFLUKONAZOLA

**Fizičko-hemijska svojstva.** Mefentriflukonazol (razvojni kod BAS 750 F) po IUPAC (skraćeno od *eng.* International Union of Pure and Applied Chemistry) nomenklaturi nosi naziv (2RS)-2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluormetil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol i racemska je mešavina (*R*) i (*S*) enantiomera. Minimalna čistoća aktivne supstance, defisana prilikom odobravanja na nivou EU, iznosi 970 g/kg, a supstanca sadrži tri toksikološki relevantne nečistoće čiji je maksimalni sadržaj u aktivnoj supstanci definisan i prihvaćen evropskom i našom zakonskom regulativom (EFSA, 2018; EC, 2017, Sl. glasnik RS, 47/22).

Čista aktivna supstanca je beli kristalni prah bez mirisa. Tačka topljenja iznosi 126°C, a raspada se na oko 300°C. Nije isparljiv, sa naponom pare od  $3,2 \times 10^{-6}$  Pa na 20°C. Slabo je rastvorljiv u vodi, puferskim rastvorima i ksilenu, umereno rastvorljiv u acetonu, etil acetatu, metanolu, 1,2-dihloretanu i acetonitrilu, a vrlo slabo rastvorljiv u n-heptanu. Nije klasifikovan kao zapaljiv, i ne poseduje eksplozivna ni oksidujuća svojstva, u skladu sa CLP uredbom (BASF, 2016). Strukturna formula mefentriflukonazola data je na Slici 1.



Slika 1. Strukturna formula mefentriflukonazola ([www.chemsrc.com](http://www.chemsrc.com))

**Mehanizam i način delovanja.** Kako sistemični fungicidi nužno imaju blisku vezu sa biohemijom i fiziologijom biljaka, njihovi načini delovanja su specifični i obično uključuju samo jedno biohemijsko ciljno mesto. S obzirom na to da je način delovanja ovog fungicida inhibicija C<sub>14</sub>-demetilacije u biosintezi sterola u membranama, mefentriflukonazol je svrstan u novu podgrupu u okviru

triazolnih fungicida, izopropanol-triazoli (G1; FRAC 3). Fungicidi inhibitori demetilacije (DMI) deluju tako što sprečavaju odvajanje metil ( $\text{CH}_3$ ) grupe koja je vezana za četrnaesti ugljenikov atom u  $\alpha$  položaju, na molekulima lanosterola i 24-metilen dihidrolanosterola, prekursora u procesu biosinteze ergosterola (Burden i sar., 1989; Ziogas i Malandrakis, 2015). Ergosterol je glavni funkcionalni sterol većine gljiva iz klasa Ascomycetes, Basidiomycetes i Fungi imperfecti, sa nekim izuzecima, i ima značajnu ulogu u regulisanju propustljivosti i fluidnosti ćelijskih membrana kod gljiva (Douglas i Konopka, 2014). Kao posledica neodvajanja metil grupe, dolazi do nagomilavanja tzv. metilovanih sterola kao što su C-4,4-dimetil-eburikol, C-4 metil-obtusifoliol i C14-metil fekosterol, koje većina gljiva ne može da iskoristi za građu svog ćelijskog zida, a to za posledicu ima prestanak rasta hifa i micelije (Burden i sar., 1989). U prisustvu ovih fungicida sinteza ergosterola je inhibirana u ranim fazama sinteze, dok se drugi metabolički procesi u tretiranim gljivama remete kasnije.

U reakciji otklanjanja 14  $\alpha$ -metil grupe učestvuju tri NADPH-zavisne oksigenaze. U prvom stepenu 14  $\alpha$ -metil grupa ( $\text{CH}_3$ ) se oksiduje do 14  $\alpha$ -hidroksimetil grupe ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), u drugom stepenu hidroksimetil grupa se oksiduje u formijat ( $\text{HCOO}^-$ ) koji se uklanja reakcijom eliminacije sa 15 $\alpha$ -vodonikom. Mono oksigenaze katalizuju prva tri stepena, pri čemu je prvi stepen katalizovan i od citohroma P-450, a ostala dva nisu. U narednim stepenima rezultat ovih reakcija je dvostruko vezivanje zasićene NADPH reduktaze u položaju 14 i 15. Odsustvo oksidacionih intermedijera za vreme 14-demetilacionih reakcija ukazuje da je prvi oksidacioni stepen koji katalizuje citohrom P-450 enzim, primarno mesto delovanja ovih fungicida. Tako je utvrđeno da ovi fungicidi mogu intereagovati sa specifičnim formama mikrozomalnog citohroma P-450 koji je uključen u biosintezu holesterola ili ergosterola (Walker, 2009; Janjić, 2015).

**Spektar delovanja.** Mefentriflukonazol je fungicid sa protektivnim i kurativnim delovanjem, koji se primenjuje za suzbijanje značajnih patogena strnih žita. Spektar delovanja obuhvata prouzrokovače bolesti lista i stabla, poput *Septoria* spp., *Puccinia* spp., *Ramularia collo-cygni*, *Rhynchosporium secalis*. Primeњуje se folijarno i to u fazama rasta od BBCH 30 do BBCH 69. Ukoliko se koristi preventivno, pre ostvarivanja infekcije, može obezbediti zaštitu useva i do šest nedelja. Može se primenjivati najviše dva puta u toku vegetacije, a preporučeni interval primene je od 14-28 dana, u zavisnosti od intenziteta bolesti i programa zaštite. Takođe, ovaj fungicid je pokazao visoku efikasnost u suzbijanju ključnih prouzrokovača bolesti jabučastog i koštičavog voća, vinove loze, krompira, soje (Heinecke i sar., 2019) i drugih useva, a registrovan je u 26 zemalja EU, Sjedinjenim Američkim državama (SAD) i drugim delovima sveta (EC, 2023; <https://agriculture.basf.com/global/en/innovations-foragriculture/innovationforfungicides/revisol.html>).

**Rezistentnost.** Prema FRAC-u, DMI i QoI su dve najrelevantnije grupe fungicida za suzbijanje bolesti u komercijalnoj poljoprivredi, jer se koriste najmanje 3-4 decenije, ali je rezistentnost gljiva na ove fungicide utvrđena kod mnogih fitopatogenih gljiva (Sang i Lee, 2020). Kada su DMI fungicidi uvedeni u primenu, smatralo se da su dobra alternativa za zaštitu od patogena koji su do tada već razvili rezistentnost na benzimidazole. Međutim, optimizam je trajao kratko zbog činjenice da ovi fungicidi imaju specifično mesto delovanja i da je ubrzo otkriveno da rizik od razvoja rezistentnosti postoji i kod ovih jedinjenja (Scheinflug, 1994). Zbog svoje visoke specifičnosti, za ovu klasu fungicida zabeleženi su neuspesi u suzbijanju prouzrokovanih obolenja širom sveta, upravo zbog razvoja rezistentnosti. U našoj zemlji, rezistentnost na DMI fungicide je do sada potvrđena kod populacija *V. inaequalis* i *C. beticola* (Stević i sar., 2010; Budakov i sar., 2014; Trkulja i sar., 2015). U svetu je laboratorijskim metodama potvrđena pozitivna ukrštena rezistentnost između mefentriflukonazola i nekih DMI fungicida (propikonazol, difenokonazol i tebukonazol) (Ishii i sar., 2021).

Prema FRAC klasifikaciji, DMI fungicidi spadaju u grupu sa srednje do visokim rizikom od razvoja rezistentnosti, stoga se treba pridržavati mera antirezistentne strategije (Brent i Hollomon, 2007).

## TOKSIKOLOŠKA SVOJSTVA

**Toksikokinetika.** Resorpcija, raspodela, izlučivanje i metabolizam mefentriflukonazola ispitivani su kod eksperimentalnih životinja nakon oralnog i intravenskog unosa. Takođe, vršeno je uporedno ispitivanje metabolizma *in vitro* na hepatocitima ljudi, pacova i miševa, sa supstancom obeleženom na hlorfenil prstenu (na C atomu), u trifluormetilfenil prstenu (na TFMP mestu) ili u triazolnom delu (na T mestu) (EFSA, 2018; EC, 2017). Mefentriflukonazol se kod pacova i miševa brzo resorbira nakon oralne primene, uz potencijalno enterohepatičko kruženje triazolnog dela. Podaci o izlučivanju preko žuči pokazuju da je oralna resorpcija kod pacova približno 85%, nakon primene male doze (5 mg/kg). U nedostatku podataka, podrazumevana inhalaciona resorpcija je 100%, dok je dermalna niska (4% za nerazblaženu formulaciju). Raspodela mefentriflukonazola je brza i intenzivna, a nakon pojedinačne oralne primene niske doze, najviše radioaktivnih ostataka u roku od jednog sata od doziranja (isključujući gastrointestinalni trakt i njegov sadržaj) otkriveno je u plazmi, jetri, nadbubrežnim žlezdama i bubrezima. Nakon pojedinačne primene visoke doze, najveća radioaktivnost zabeležena je u roku od dva sata od doziranja (isključujući gastrointestinalni trakt i njegov sadržaj) u jetri i nadbubrežnim žlezdama. Nakon primene pomenutih doza, koncentracije radioaktivnih ostataka su generalno opadale u organima i tkivima uporedo sa radioaktivnim ostacima u plazmi. Metabolizam mefentriflukonazola

je ekstenzivan i brz što rezultira, takođe, brzim i ekstenzivnim izlučivanjem (urinom i fecesom), a identifikovano je čak 68 metabolita. Ovi metaboliti su dobijeni hidroksilovanjem osnovne supstance, koja naknadno podleže reakciji sa glukuronskom kiselinom. U tkivima (jetra, bubrezi) i plazmi, glavni deo metabolita je detektovan kao hidroksilovana ili nepromenjena osnovna supstanca, a manje količine su otkrivene kao glukuronidni ili sulfatni konjugati dihidroksilovane osnovne supstance. Izlučivanje mefentriflukonazola preko fecesa je brzo, u roku od dva do tri dana nakon oralnog unošenja kod pacova, i u visokom procentu (> 75%). Izlučivanje preko urina je od manjeg značaja (najviše 12,2%), a akumulacija u organima i tkivima nije registrovana (BASF, 2016a; EC, 2017).

### Toksičnost za sisare

**Akutna toksičnost, iritativna i senzibilizirajuća svojstva.** Mefentriflukonazol nije akutno oralno ( $LD_{50} > 2000$  mg/kg), dermalno ( $LD_{50} > 5000$  mg/kg), ni inhalaciono ( $LC_{50} > 5.3$  mg/l) toksičan. Ne dovodi do iritacije kože i oka, ali može dovesti do senzibilizacije kože, pa je klasifikovan i obeležen po ovom osnovu. Nije foto-toksičan, odnosno foto-citotoksičan (BASF, 2016a).

**Kratkoročna (subakutna i subhronična) toksičnost.** Ispitivanja subakutne i subhronične toksičnosti rađena su na pacovima, miševima i psima, posle oralne i dermalne ekspozicije. U ovim ispitivanjima jetra je bila ciljni organ kod svih ispitivanih vrsta, sa potencijalno relevantnim uticajem i na čoveka, što je uzeto u obzir pri proceni rizika. Pri proceni efekata pažnja je posvećena razdvajanju potencijalno štetnih efekata od onih koji su uobičajen odgovor na prisustvo hemijskog agensa i predstavljaju adaptivne promene (hepatocelularna hipertrofija kao rezultat indukcije metaboličkih enzima da bi se održala homeostaza). Štetni efekti na jetri potvrđeni su registrovanim povećanjem relativne i apsolutne mase jetre, promenom parametara kliničke hemije koji ukazuju na poremećaj rada jetre, kao i histopatološkim nalazima.

Subakutna dermalna primena mefentriflukonazola tokom perioda od 4 nedelje nije rezultirala simptomima lokalne ili sistemske toksičnosti kod pacova, do nivoa doze od 1000 mg/kg/dan, što ukazuje na činjenicu da mefentriflukonazol nije subakutno dermalno toksičan, a doza bez štetnog efekta (NOAEL) veća je od 1000 mg/kg/dan (BASF, 2016a; EFSA, 2018; EC, 2017, Tesh i sar., 2019).

**Genotoksičnost.** Ispitivanja genotoksičnog potencijala mefentriflukonazola vršena su u šest *in vitro* testova na ćelijama bakterija i sisara (dva bakterijska testa reverznih mutacija, dva testa na L5178Y ćelijama limfoma miša, test na V79 ćelijama limfocita zamorca i test na humanim limfocitima, sa i bez metaboličke aktivacije) i jednom u *in vivo* uslovima (mikronukleus test). Rezultati ispitivanja su pokazali da mefentriflukonazol, u datim eksperimentalnim uslovima, nema ge-



notoksični potencijal; rezultati svih testova bili su negativni (Woitkowiak, 2014, Woitkowiak, 2015, Wollny, 2015, Wollny, 2015, Schulz i Landsiedel, 2014, Sokolowski, 2015; cit. EC, 2017).

**Hronična toksičnosti i karcinogenost.** Hronična toksičnost i karcinogeni potencijal mefentriflukonazola ispitani su kod pacova (24 meseca) i miševa (18 meseci). Jetra je i u ovim ispitivanjima bila jedini ciljni organ kod obe vrste životinja. Od efekata na pacovima registrovani su: smanjenje telesne mase i prirasta telesne mase kod životinja oba pola kao i povećanje relativne mase jetre i hipertrofija hepatocita. Kod ovih životinja i relativne mase mozga, srca, bubrega i epididimisa bile su povećane, a kod ženki i relativne mase nadbubrežnih žlezda. Takođe, kliničko-hemijski parametri bili su promenjeni, u odnosu na kontrolne vrednosti; registrovano je smanjenje nivoa glukoze, bilirubina (samo kod ženki), povećana aktivnost alkalne fosfataze (ALP), kao i povećanje nivoa uree (samo kod mužjaka). Učestalost pojave malignih limfoma kod mužjaka i adenokarcinoma kod ženki nije bila statistički značajna, u poređenju sa kontrolom i bez dozne zavisnosti, a uglavnom u okvirima istorijske kontrole laboratorije (EC, 2017; Tesh i sar., 2019).

U hroničnim studijama oralne toksičnosti i karcinogenosti na miševima utvrđeno je smanjenje telesne mase i prirasta telesne mase kod životinja oba pola, kao i povećanje relativne mase jetre. Utvrđena je i pojava nekih patoloških promena u tkivu jetre (masne promene i centrilobularne inkluzije kod mužjaka i nekroza hepatocita kod ženki). Utvrđeno je da su efekti na bubrezima u vezi sa tretmanom, dok su promene na nadbubrežnim žlezdama u vezi sa stresnim uslovima kojima su životinje bile izložene (Everds i sar., 2013). Pojava blagog povećanja tiroidnih folikularnih adenoma bila je u okvirima istorijske kontrole laboratorije (EC, 2017; Tesh i sar., 2019).

Prilikom evaluacije na nivou EU zaključeno je da rezultati ovih studija pokazuju da mefentriflukonazol nema karcinogeni potencijal i da ne treba da bude klasifikovan i obeležen po ovom osnovu.

**Reproduktivna toksičnost.** Potencijal mefentriflukonazola da negativno utiče na reproduktivne parametre ispitivan je na dve generacije Wistar pacova. Nisu registrovani letalni efekti mefentriflukonazola ni pojava kliničkih simptoma trovanja. Toksični efekti za roditelje ( $F_0$  i  $F_1$  generacija) u grupi sa primenjenim visokim dozama obuhvatali su smanjenje unosa hrane, telesne mase i prirasta telesne mase, u poređenju sa kontrolom. Povećana aktivnost ALP registrovana je kod životinja oba pola u srednjoj i visokoj dozi, a povećanje nivoa holesterola kod mužjaka u  $F_0$  generaciji. Nivo ukupnog bilirubina bio je smanjen kod mužjaka u  $F_0$  i  $F_1$  generaciji i kod ženki u  $F_1$  generaciji. Relativna masa jetre (u odnosu na telesnu masu) bila je povećana kod životinja oba pola u  $F_0$  i  $F_1$  generaciji u srednjoj i visokoj dozi. Ovo povećanje mase jetre praćeno je centrilobularnom hipertrofijom (BASF, 2016a; EC, 2017; Tesh i sar., 2019).

Nisu registrovani statistički značajni efekti na parametre plodnosti i parenja, kao ni embriotoksični i fetotoksični efekti mefentriflukonazola, u poređenju sa kontrolom. Trajanje gestacije je bilo veoma blago, ali statistički značajno povećano (razlika u odnosu na kontrolu iznosila je pola dana) kod ženki F<sub>0</sub> generacije. Nema dokaza da mefentriflukonazol ima specifičan negativan efekat na preživljavanje mladih nakon koćenja. Blago smanjenje indeksa živo-rođenih mladunaca u obe generacije, nije bilo statistički značajno, a posledica je pojedinačnih gubitaka celog legla što je bio rezultat neadekvatne nege, zbog znatno smanjenog unosa hrane kod majki. Smanjenje unosa hrane i telesne mase u ranom periodu laktacije, u grupi sa primenjenim visokim dozama, uticalo je na razvoj mladih. U svakoj generaciji, telesna masa mladih, iz grupe sa najvećom dozom, bila je niža u poređenju sa kontrolom. Indeksi vijabilnosti i laktacije nisu se statistički značajno razlikovali od kontrolnih vrednosti.

Rezultati ispitivanja pokazuju da mefentriflukonazol ne izaziva specifične efekte na plodnost, reprodukciju i gestaciju. Neznatne promene nekih reproduktivnih parametara i pojave toksičnih efekata na mlade, registrovane su samo kod doze koja je imala jasne toksične efekte na roditelje (smanjenje unosa hrane i telesne mase) (EC, 2017; Tesh i sar., 2019).

**Delovanje na rast i razvoj.** Delovanje mefentriflukonazola na rast i razvoj je ispitivano na pacovima i kunićima nakon oralne primene supstance u vreme gestacije. Od efekata na pacovima registrovani su: smanjenje telesne mase, prirasta telesne mase i unosa hrane, dok efekti na rast i razvoj embriona i fetusa nisu registrovani (bili su u granicama kontrolnih vrednosti ili istorijske kontrole). Kod ženki kunića, izlaganje mefentriflukonazolu nije uticalo na unos hrane i telesnu masu, niti na parametre reprodukcije ili masu fetusa. Statistički nije bilo značajnog povećanja bilo koje vrste malformacija (EFSA, 2018; EC, 2017; Tesh i sar., 2019).

**Neurotoksičnost.** U ispitivanjima akutne oralne neurotoksičnosti na pacovima registrovani su: smanjenje prirasta telesne mase, nestabilan hod, smanjena aktivnost, smanjena snaga prednjih udova i promene u spuštanju stopala (kod mužjaka na dan tretmana). Rezultati baterije funkcionalnih testova (tzv. FOB test, eng. Functional observational battery) su pokazali blage promene koordinacije kod životinja iz najviše testirane doze (2000 mg/kg), u odnosu na kontrolu na dan tretiranja, ali ne i u dva naredna testa. Svi pomenuti efekti su bili prolazni i nepovezani sa strukturnim ili funkcionalnim oštećenjem neurona (patohistološki nalazi bili su uredni). Zaključeno je da su efekti bili povezani sa sistemskom toksičnošću i nije primećena specifična neurotoksičnost. Subhronična neurotoksičnost ispitivana je na pacovima posle oralne primene mefentriflukonazola u toku tri meseca. Nije bilo promene motoričke aktivnosti, u poređenju sa kontrolom, a histopatološki nalazi nervnih tkiva su bili uredni. Mefentriflukonazol je supstan-



ca koja ne deluje neurotoksično posle akutne i subhronične izloženosti (EFSA, 2018; EC, 2017).

**Metaboliti.** Mefentriflukonazol se u velikoj meri metaboliše u biljkama i životinjama. Metaboliti koji se nalaze u hrani i hrani za životinje grupisani su prema njihovoj hemijskoj sličnosti i zajedničkim metaboličkim putevima. Svi metaboliti osim 2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluorometil)fenil]propan-1,2-diol-a (M750F022) javljaju se u procentu većem od 10 i stoga su ispitivani u toksikološkim studijama mefentriflukonazola. Metabolit M750F022 identifikovan je kao ostatak u studiji metabolizma kod kokica, dok u studijama metabolizma mefentriflukonazola kod pacova, M750F022 nije pronađen u značajnoj količini ( $\ll 10\%$ ). Da bi se utvrdio toksikološki profil ovog metabolita i metabolita M750F019 korišćene su studije akutne i subakutne oralne toksičnosti i *in vitro* studije genotoksičnosti. Rezultati su pokazali da su referentne vrednosti utvrđene za mefentriflukonazol primenjive i na metabolite, odnosno da metaboliti nisu toksičniji od aktivne supstance, nisu akutno toksični ni genotoksični. Isti zaključak je izveden i za metabolite 2-hlor-4-{4-[2-hidroksi-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il]-3-(trifluorometil)fenoksi}fenol (M750F015), 2-(4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluorometil)fenil)-2-hidroksipropil oleat (M750F024) i 2-(4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluorometil)fenil)-2-hidroksipropil palmitat (M750F025). Ne postoje toksikološka ispitivanja za metabolite derivate triazola (MTD): 1,2,4-triazol (1,2,4-T), triazol alanin (TA), triazol sirćetna kiselina (TAA) i triazol mlečna kiselina (TLA), pa su za njih utvrđene referentne vrednosti iz podataka za druge aktivne supstance iz grupe triazola koje imaju ove iste metabolite (EFSA, 2018; EC, 2017).

**Referentne vrednosti mefentriflukonazola.** Kao relevantni NOAEL u studijama toksičnosti izdvojen je onaj dobijen u testovima karcinogenosti na miševima (3,5 mg/kg/dan) što je odabrano kao odgovarajuća polazna tačka za utvrđivanje prihvatljivog dnevnog unosa (PDU; skraćeno od *eng.* ADI – Acceptable daily intake). Za ekstrapolaciju odabran je faktor nesigurnosti od 100, tako da prihvaćen PDU iznosi 0,035 mg/kg/dan. Za utvrđivanje akutne referentne doze (skraćeno od *eng.* Acute reference dose – ARfD) uzet je NOAEL iz ispitivanja razvojne toksičnosti na kunićima (15 mg/kg/dan). Uzevši u obzir standardni faktor nesigurnosti 100, dobijena je vrednost ARfD od 0,15 mg/kg. Prihvatljiv nivo izloženosti operatera (skraćeno od *eng.* acceptable operator exposure level – AOEL) iznosi 0,035 mg/kg/dan, a dobijen je iz studija subhronične i hronične toksičnosti na miševima, uz faktor nesigurnosti 100 (EFSA, 2018; EC, 2022).

## OSTACI

**Stabilnost ostataka.** Mefentriflukonazol je stabilan u sledećim usevima: paradajz, jabuka, seme soje, seme repice, suvo seme graška i pasulja, zrno pšenice, krtole krompira, grožđe i limun, u periodu od 730 dana (~24 meseca) na temperaturama manjim ili jednakim -18 °C. Takođe, mefentriflukonazol je stabilan u tkivu krava (jetra, bubrezi, mišići i masnoća), mleku, kajmaku i jajima najmanje 177 dana, kada su uzorci duboko zamrznuti (EC, 2017; EFSA, 2020).

Od metabolita je značajan M750F022, za koji se pokazalo da je stabilan u tkivu krava (jetra, bubrezi, mišići), mleku i kajmaku i kokošjem jajetu najmanje 178 dana, kada se uzorci čuvaju u uslovima dubokog zamrzavanja. Metaboliti derivata triazola nastaju tokom metabolizma mefentriflukonazola u biljnim i životinjskim proizvodima. Studije o stabilnosti skladištenja su dostupne samo za triazol mlečnu kiselinu i pokazuju da je stabilna u zrnu pšenice, pasulju, pomorandži, semenu repice i zelenoj salati najmanje 48 meseci, kada se uzorci čuvaju u uslovima dubokog zamrzavanja (EC, 2017; EFSA, 2020).

**Metabolizam, distribucija i ostaci u biljkama.** Metabolizam je ispitivan korišćenjem obeleženog mefentriflukonazola (na C- ili T-prstenu) na tri biljne vrste: pšenici, soji i vinovoj lozi. Ostatak u većini slučajeva čini osnovno jedinjenje – mefentriflukonazol (>60% primenjene radioaktivnosti), posebno u stočnoj hrani (pšenica, soja), lišću/stabljici (vinova loza), slami/ljusci/plevi (pšenica, soja), zelenoj mahuni (soja) i grožđu (vinova loza). U zrnu pšenice i semenu soje, mefentriflukonazol je prisutan u veoma maloj količini, a preovlađujuća komponenta ostatka je grupa MTD, sa triazol alaninom kao najzastupljenijem jedinjenjem. U narednim biljkama u plodoredu (lisnato i korenasto-krtolasto povrće i strna žita) kao glavni ostaci detektuju se mefentriflukonazol i grupa MTD, a metabolizam u ovim biljkama sličan je metabolizmu u primarnim usevima, bez pojave novih metabolita (BASF, 2016b).

Metaboliti koji se javljaju u biljnim delovima u većim količinama (>10%) su M750F018, M750F019, M750F020, M750F026, M750F027 (kojima nisu određeni hemijski nazivi), dok se u manjim količinama (<10%) javljaju 2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluormetil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il heskopiranozid (M750F011), 2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluormetil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il 6-O-(karboksiaetil)heskopiranozid (M750F012), 2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluormetil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il 6-O-heskopiranozil heksapiranozid (M750F013), 2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluormetil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il [6-O-(karboksiaetil)heskopiranozil] heksapiranozid (M750F014), 2-[4-(4-hlorfenoksi)-2-(trifluormetil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il 6-O-pentofuranozil heksapiranozid (M750F028), M750F009 i M750F010 (bez definisanih hemijskih naziva). Neko-

njugovani metaboliti koji su identifikovani u biljnim delovima u većim količinama su 1,2,4-T, TA, TAA i u manjim TLA.

Kao ostatak za praćenje u biljkama određen je mefentriflukonazol, kao dominantna komponenta u svim praćenim biljnim delovima, sa izuzetkom zrna pšenice i semena soje u kojima su triazol derivatni metaboliti (posebno TA) najzastupljenija jedinjenja. Metaboliti MTD doprinose velikom udelu ostatka u svim biljnim vrstama, međutim ovi metaboliti su zajednički za niz aktivnih supstanci iz grupe triazolnih fungicida (EC, 2017; EFSA, 2020).

**Ispitivanja ostataka u biljkama i maksimalno dozvoljene količine ostataka.** Predložena upotreba mefentriflukonazola u EU je na pšenici i ječmu. U Tabeli 1 dat je prikaz ostataka mefentriflukonazola u strnim žitima u ogledima koji su sprovedeni u Evropi (severna i južna Evropa) i definisane MDK vrednosti za ovu aktivnu supstancu.

Tabela 1. Podaci o ostacima pesticida

| Usev    | Proizvod | STMR** (mg/kg) | HR* (mg/kg) | MDK (mg/kg) |
|---------|----------|----------------|-------------|-------------|
| Pšenica | Zrno     | 0,01           | 0,026       | 0,05        |
|         | Slama    | 3,6            | 18,0        | 30          |
| Raž     | Zrno     | 0,01           | 0,026       | 0,05        |
|         | Slama    | 3,6            | 18,0        | 30          |
| Ječam   | Zrno     | 0,1            | 0,41        | 0,6         |
|         | Slama    | 4,25           | 18,0        | 30          |
| Ovas    | Zrno     | 0,1            | 0,41        | 0,6         |
|         | Slama    | 4,25           | 18,0        | 30          |

\* HR (Highest Residue) – najveći nivo ostataka u kontrolisanim ogledima

\*\* STMR (Supervised Trials Median Residue) – srednji nivo ostataka u kontrolisanim ogledima

Iz tabele se može zaključiti da je najveći nivo ostataka mefentriflukonazola utvrđen u slami svih žita (18,0 mg/kg), a najveća MDK vrednost je određena za slamu ovih biljaka i iznosi 30 mg/kg, dok MDK za zrno pšenice i raži iznosi 0,05 mg/kg, dok za zrno ječma i ovasa iznosi 0,6 mg/kg (EC, 2017; EC, US EPA, 2019; 2023).

**Metabolizam, distribucija i ostaci kod narednih biljaka u plodoredu.** Studije su sprovedene na različitim kulturama koje predstavljaju tri različite kategorije useva, odnosno lisnato povrće, korenasto i krtolasto povrće i strna žita. Mefentriflukonazol je primenjen u količini od 300 g/ha na golo zemljište, što odgovara koncentraciji u zemljištu od 0,1 mg/kg. Naredni usevi u plodoredu su kultivisani nakon intervala od 30, 120 i 365 dana. Na osnovu dobijenih rezultata kao ostatak u narednim kulturama je identifikovano osnovno jedinjenje, mefen-

triflukonazol, kao i metaboliti derivati triazola. Za upotrebu mefentriflukonazola, nema ograničenja za ponovnu sadnju, a podrazumevana MDK od 0,01 mg/kg je pogodna za naredne useve u plodoredu (EC, 2017; EFSA, 2020).

**Procena hroničnog rizika.** Najveća hronična izloženost (najveći teoretski dnevni unos; skraćeno od *eng.* Theoretical Maximum Daily Intake - TDMI) mefentriflukonazolu ustanovljena je kod Irske populacije (kategorija: odrasli) gde je izloženost bila 3,8% ADI, što je i dalje nizak i prihvatljiv rizik. Najveći udeo u celokupnoj izloženosti imali su ostaci u ječmu (1,9% ADI) i jetri ovaca (0,4% ADI). Za sve evropske populacijske grupe TMDI je znatno ispod ADI, stoga se ne očekuju neprihvatljivi rizici po zdravlje ljudi posle hronične izloženosti (EC, 2017). U Kini je rađeno ispitivanje ostataka mefentriflukonazola na pirinču i procena rizika na bazi tih nivoa ostataka. Rezultati procene pokazuju da je hronični rizik prihvatljiv i iznosi 31,85% ADI (Zhang i sar., 2023).

**Procena akutnog rizika.** Kod procene akutnog rizika, najveći međunarodno procenjeni jednokratni unos (IESTI – International Estimated Short-Term Intake) u Evropi ustanovljen je kod ostataka mefentriflukonazola u goveđoj jetri i mlečnim proizvodima (za populacionu kategoriju: deca) i iznosio je 0,8% ARfD. Kod populacione kategorije odrasli, najveća izloženost utvrđena je za ostatke u ječmu (1,1% ARfD). U oba slučaja IESTI je znatno ispod ARfD za sve proizvode kada se posmatra evropska populacija, stoga se ne očekuju neprihvatljivi rizici po zdravlje ljudi posle akutnog izlaganja (EC, 2017). Rezultati procene rizika od ostataka mefentriflukonazola u pirinču u Kini potvrđuju ovaj zaključak; akutni rizik je nizak i prihvatljiv i iznosi 0,7483% ARfD (Zhang i sar., 2023).

Wang i sar. (2023) sproveli su ispitivanja da bi se, između ostalog, istražili ostaci povezani sa primenom mefentriflukonazola i piraklostrobina u zasadima manga na šest lokacija širom Kine. Početne koncentracije mefentriflukonazola i piraklostrobina kretale su se u rasponu od 0,18 do 0,34 mg/kg. Tri nedelje nakon folijarne primene, krajnje koncentracije mefentriflukonazola i piraklostrobina iznosile su 0,02-0,04 mg/kg i 0,01-0,04 mg/kg, pri čemu su ove koncentracije bile ispod maksimalno dozvoljene količine (MDK) ostatka utvrđene za piraklostrobin. Akutne (procenat akutne referentne doze – ARfD% 0,78–2,36% i 2,0–6,08%) i hronične (procenat ADI 0,08–0,47% i 0,09–0,55%) procene rizika pokazale su da su ove koncentracije ostataka prihvatljive za opštu populaciju.

Zhang i sar. (2019) su ispitivali ostatke mefentriflukonazola u krastavcu i paradajzu, nakon tretiranja suspenzijom mefentriflukonazola u količini od 400 mg/l. Uzorci krastavca i paradajza sakupljani su 7, 10. i 14. dana nakon primene fungicida. Ostaci u krastavcu i paradajzu su bili 5,0±0,7 µg/kg i 64,2±5,3 µg/kg, sedmog dana, i ispod 5 µg/kg do 10. i 14. dana za krastavac i 76,4±6,5 µg/kg 10. dana i 50,8±4,7 µg/kg 14. dana za paradajz (Zhang i sar., 2019).

**Sudbina i ponašanje mefentriflukonazola u životnoj sredini.** U laboratorijskim aerobnim uslovima mefentriflukonazol je veoma perzistentan u zemljištu, a ni jedan metabolit nije detektovan u procentu većem od 10. Kao značajan izdvojen je 1,2,4-T, kao metabolit koji se javlja u životnoj sredini, mada je detektovan u maksimalnoj količini od 5,1% od primenjene radioaktivnosti. Kao i aktivna supstanca umereno je do veoma perzistentan u zemljištu u laboratorijskim aerobnim uslovima. U anaerobnim uslovima degradacija mefentriflukonazola je spora i, takođe, nisu detektovani metaboliti u koncentraciji većoj od 10%. Ispitivanja pokazuju da fotoliza ne utiče značajno na razgradnju mefentriflukonazola u zemljištu (EC, 2017; US EPA, 2019a; EFSA, 2020).

Mefentriflukonazol je slabo pokretljiv u zemljištu, za razliku od metabolita 1,2,4-T koji je veoma pokretljiv, a ispitivanja pokazuju da adsorpcija aktivne supstance i metabolita ne zavisi od pH zemljišta. Ispitivanja sudbine mefentriflukonazola u polju rađena su na šest lokacija u EU, a rezultati pokazuju da su mefentriflukonazol i 1,2,4-T perzistentni do veoma perzistentni u zemljištu (DT50 aktivne iznosi od 96,5 od 610,8 dana) (EC, 2017; US EPA, 2019a; EFSA, 2020).

U sistemu voda/sediment, u laboratorijskim aerobnim uslovima bez svetlosti, mefentriflukonazol je veoma postojan, a glavni metabolit je i u ovom slučaju 1,2,4-T (max. 10,2% u vodi i 4,9% u sedimentu). Mefentriflukonazol iz vode brzo migrira u sediment i na kraju ispitivanja manje od 5% aktivne supstance je detektovano u vodi, a 45,6-67,3% u sedimentu. Mineralizacija je praktično bez značaja i iznosi 0,5-9,6% na kraju ispitivanja, a maksimalna koncentracija vezanih ostataka iznosi 26,6%. Za razliku od fotolize u zemljištu, fotoliza u vodi u anaerobnim uslovima je brza i značajna (DT50 iznosi 2,3 dana), a kao rezultat dolazi do formiranja četiri proizvoda fotodegradacije: 4-{4-[2-hidroksi-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-il]-3-(trifluorometil)fenoksi} fenol (M750F005) (max. 32.2%), 6-(4-hlorfenoksi)-3-metil-3-[(1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-2-benzofuran-1(3H)-on (M750F006) (max. 30.7%), 6-(4-hidroksifenoksi)-3-metil-3-[(1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-2-benzofuran-1(3H)-on (M750F007) (max. 43.9%) i 6-(5-hlor-2-hidroksifenil)-3-metil-3-[(1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-2-benzofuran-1(3H)-on (M750F008) (max. 7.3%). Ispitivanja brzine degradacije na površini biljaka pokazuju da je mefentriflukonazol umereno postojan, a DT50 iznosi 10 dana (EC, 2017; US EPA, 2019a; EFSA, 2020). Ovo potvrđuju i rezultati ispitivanja na biljkama pirinča u polju koji pokazuju da DT50 iznosi 2,8-16,6 dana (Zhang i sar., 2023).

U vazduhu poluživot mefentriflukonazola iznosi 1,67 dana, a imajući u vidu veoma nisku isparljivost ne postoji opasnost od prenošenja ove aktivne supstance vazduhom na velike razdaljine.

## EKOTOKSIKOLOŠKA SVOJSTVA

Mefentriflukonazol je akutno oralno štetan za belorepu prepelicu, dok za divlju patku i divljeg kanarinca nije. Rezultati procene akutnog i hroničnog rizika pokazuju da je rizik za ptice, od dve primene preparata na bazi ove aktivne supstance u strnim žitima, prihvatljiv. Takođe, prihvatljiv je i rizik za ptice koje se hrane kišnim glistama i ribama u kojima se mogu naći ostaci mefentriflukonazola, a prihvatljiv je rizik i od ekspozicije preko kontaminirane vode za piće. Na osnovu ispitivanja na sisarima urađena je procena rizika i rezultati procene su pokazali da mefentriflukonazol i reprezentativni preparat ne predstavljaju akutni ni hronični rizik za sisare, da je rizik od sekundarnog trovanja (preko ishrane kišnim glistama i ribama) nizak i prihvatljiv, kao i rizik preko kontaminirane vode za piće (EC, 2017).

Za akvatične organizme, ribe, beskičmenjake i alge, mefentriflukonazol je veoma toksičan akutno i hronično, dok je za organizme sedimenta i akvatične makrofite toksičan (EC, 2017; Brzowska, 2014; Van Hooser, 2014a; Van Hooser, 2014b; Janson, 2014; Dinehart, 2016). Cui i sar. (2022) su u ispitivanjima na zebra ribi utvrdili da su larveni stadijumi najosetljiviji pri praćenju letalnih efekata, zatim embrioni i adulti. Osim letalnih utvrđeni su i efekti na rast, razvoj i srčanu funkciju. Takođe, utvrdili su da postoji razlika u toksičnosti između racemske smeše, (S) i (R) enantiomera. Razliku u toksičnosti između enantiomera mefentriflukonazola na hepatotoksičnost zebra ribe utvrdili su i Li i sar. (2022).

Rizik za akvatične organizme, za primenu u ozimim i jarim strnim žitima, prihvatljiv je na četvrtom koraku procene, kada se primene zone bezbednosti od 5 metara. Zagađenje podzemnih voda u koncentracijama većim od 0,1 µg/L je malo verovatno. Biokoncentracioni faktor mefentriflukonazola za celu ribu iznosi manje od 500, a eliminacija iz riba je vrlo brza i  $t_{1/2}$  iznosi 0,60 dana, tako da je rizik od biokoncentracije i biomagnifikacije nizak (Wilbrand, 2013). Mefentriflukonazol nije akutno oralno i kontaktno toksičan za pčele, a rizik za primenu u strnim žitima je nizak i prihvatljiv kada se primenjuje u skladu sa principima dobre poljoprivredne prakse (Franke, 2015; Kleebaum, 2015a; Kleebaum, 2015b). Takođe, rizik je prihvatljiv za larve pčela, za adulte bumbara, kao i za ostale korisne artropode (Amsel, 2015; EC, 2017).

Mefentriflukonazol nije toksičan za kišne gliste u laboratorijskim ni u uslovima polja (EC, 2017; Friedrich, 2013a; Hamberger, 2015; Schulz, 2015a), što potvrđuju i rezultati procene rizika; hronični rizik za kišne gliste od dve primene preparata u strnim žitima je prihvatljiv. Kao i kod riba, i kod kišnih glista je utvrđena različita toksičnost pojedinačnih enantiomera i racemske smeše; najtoksičniji je (S) enantiomer, pa racemska smeša, a najmanje toksičan za kišne gliste je (R) enantiomer (Xu i sar., 2022). Takođe, rizik je prihvatljiv i za drugu neciljnu mezo- i makrofaunu (*Falsomia candida* i *Hypoaspis aculeifer*) pod istim uslovima primene (EC, 2017; Friedrich, 2013b; Schultz, 2014). Efekti na mikro-



organizme u zemljištu manji su od graničnih 25%, a dobijene vrednosti za aktivnu supstancu veće su od očekivanih koncentracija u životnoj sredini, što ukazuje na prihvatljiv rizik pri preporučenim načinima primene. Takođe, i rizik za neciljne biljke je prihvatljiv (EC, 2017; Schulz, 2015b; Marquardt, 2015).

## ZAKLJUČAK

Mefentriflukonazol pripada novoj podgrupi u okviru triazolnih fungicida, izopropanol-azolima (G1; FRAC 3), a način delovanja ove aktivne supstance je inhibicija C14-demetilacije u biosintezi sterola u membranama. Deluje protektivno, kurativno i eradikativno, a koristi se za suzbijanje značajnih patogena strnih žita. Spektar delovanja obuhvata prouzrokovalač bolesti lista i stabla, poput *Septoria* spp., *Puccinia* spp., *Ramularia collo-cygni*, *Rhynchosporium secalis*. Kao i za ostale DMI fungicide, rizik od razvoja rezistentnosti je označen kao „srednji“, stoga treba sprovesti mere antirezistentne strategije. Mefentriflukonazol nije akutno, dermalno ni inhalaciono toksičan. Ne dovodi do iritacije kože i oka, ali može izazvati senzibilizaciju kože. Nema genotoksični, karcinogeni, reprotoksični ni neurotoksični potencijal. Takođe, ne izaziva specifičnu toksičnost za ciljane organe posle jednokratne ili višekratne izloženosti. Akutna i hronična dijetarna izloženost svih populacionih grupa ovoj aktivnoj supstanci je niska, sa velikom marginom bezbednosti. Posle skorog povlačenja iz primene velikog broja aktivnih supstanci iz grupe triazola (epoksikonazol, ciprokonazol, flutriafol, miklobutanil i dr) uglavnom zbog reprotoksičnog i karcinogenog (epoksikonazol) delovanja, povoljna toksikološka svojstva mefentriflukonazola i dobra efikasnost preporučuju ovu aktivnu supstancu kao dobru zamenu za triazole povučene iz primene.

## LITERATURA

- Amsel, K. (2015): Acute toxicity of BAS 750 F to the bumblebee *Bombus terrestris* L under laboratory conditions. BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- BASF (2016): BAS 750 F - Identity of the active substance, Physical and chemical properties of the active substance. BASF SE, 67059 Ludwigshafen, Germany.
- BASF (2016a): BAS 750 F – Toxicological and metabolism studies on the active substance. BASF SE, 67059 Ludwigshafen, Germany.
- BASF (2016b): BAS 750 F – Residues in or on treated products, food and feed and plant metabolism. BASF SE, 67059 Ludwigshafen, Germany.
- Brent, J. K., Hollomon, W. D. (2007): Fungicide Resistance: The Assesment of Risk. Frac Monograph No. 2, second (revised) edition. Fungicide Resistance Action Committee, United Kingdom.
- Brzozowska, K. (2014): BAS 750 F – *Daphnia magna*, acute immobilization test. Institute of Industrial Organic Chemistry, Psczyna, Poland (unpublished).
- Budakov, D., Nagl, N., Stojšin, V., Bagi, F., Danojević, D., Neher, T. O., Taški-Ajduković, K. (2014): Sensitivity of *Cercospora beticola* isolates from Serbia to carbendazim and flutriafol *Crop Protection* Dec 2014, Volume 66, 120-126.

- Burden, R. S., Cooke, D. T., Carter, G. A. (1989): Inhibition of sterol biosynthesis and growth in plants and fungi. *Phytochemistry*, 28: 1791-1804.
- Carson, R. (1962): *Silent Spring*. Boston: Houghton Mifflin.
- Cui, F., Chai, T., Di, S., Qi, P., Wang, X. (2022): Toxicity of mefentrifluconazole enantiomers on multiple stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10, 107653.
- Douglas, L., M., Konopka, J., B. (2014): Fungal membrane organization: the eisosome concept. *Annu Rev Microbiol* 68:377–393. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091313-103507>
- Dèlye, C., Bousset, L., Corio-Costet, M. F. (1998): PCR cloning and detection of point mutations in the eburicol 14 $\alpha$ -demethylase (*CYP51*) gene from *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, a “recalcitrant” fungus. *Curr.Genet.* 34: 399-403.
- Dinehart, S. (2016): Chronic toxicity of BAS 750 F to *Daphnia magna* in a semi-static test. BASF SE, Limburgerhof, Germany (unpublished).
- EFSA (European Food Safety Authority): Anastassiadou M, Bernasconi G, Brancato A, Carrasco Cabrera L, Greco L, Jarrah S, Kazocina A, Leuschner R, Magrans JO, Miron I, Nave S, Pedersen R, Reich H, Rojas A, Sacchi A, Santos M, Stanek A, Theobald A, Vagenende B and Verani A, 2020. Reasoned Opinion on the review of the existing maximum residue levels for amisulbrom according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA Journal* 2020; 18(7):6170, 28 pp.
- EFSA (European Food Safety Authority): Arena M, Auteri D, Barmaz S, Brancato A, Brocca D, Bura L, Carrasco Cabrera L, Chiusolo A, Civitella C, Court Marques D, Crivellente F, Ctverackova L, De Lentdecker C, Egsmose M, Erdos Z, Fait G, Ferreira L, Goumenou M, Greco L, Ippolito A, Istace F, Jarrah S, Kardassi D, Leuschner R, Lythgo C, Magrans JO, Medina P, Mineo D, Miron I, Molnar T, Padovani L, Parra Morte JM, Pedersen R, Reich H, Riemenschneider C, Sacchi A, Santos M, Serafimova R, Sharp R, Stanek A, Streissl F, Sturma J, Szentes C, Tarazona J, Terron A, Theobald A, Vagenende B, Van Dijk J and Villamar-Bouza L, 2018. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance BAS 750 F (mefentrifluconazole). *EFSA Journal* 2018; 16(7):5379, 25 pp.
- European Commission (2017): BAS 750F (Mefentrifluconazole) Volume 1. Draft Assessment Report prepared to the Commission Regulation (EU) N° 1107/2009. Rapporteur Member State: United Kingdom Co-Rapporteur Member State: France & Austria.
- European Commission (2022): Mefentrifluconazole, status under Reg. (EC) No 1107/2009 – Pesticide Database. [https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as\\_id=1332](https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as_id=1332) (pristupljeno 12.09.2022)
- European Commission (2023): Pesticide Database – Active substance: Mefentrifluconazole. (pristupljeno mart 2023)
- Everds, N.E., Snyder, P.W., Bailey, K.L., Bolon, B., Creasy, D.M., Foley, G.L., Rosol, T.J., Sellers, T. (2013): Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. *Toxicologic Pathology*, 41: 560-614
- Everds, N.E., Snyder, P.W., Bailey, K.L., Bolon, B., Creasy, D.M., Foley, G.L., Rosol, T.J., Sellers, T. (2013): Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. *Toxicologic Pathology*, 41: 560-614

- Franke, M. (2015a): Acute toxicity of BAS 750 F to the honeybee *Apis mellifera* L under laboratory conditions. BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- Franke, M. (2015b): Acute toxicity of BAS 750 F to the honeybee larvae *Apis mellifera* L under laboratory conditions (*in vitro*). BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- Friedrich, S. (2013a): Sublethal toxicity of BAS 750 F to the earthworm *Eisenia fetida* in artificial soil. BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- Friedrich, S. (2013b): Effects of BAS 750 F on the reproduction of the collembolan *Falsomia candida*. BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- Hollister, A. S., Breese, G. R., Cooper, B. R. (1974): Comparison of tyrosine hydroxylase and dopamine-&hydroxylase inhibition with the effects of various 6-hydroxydopamine treatments on d-amphetamine induced motor activity. Psychopharmacologia, 36, 1-16.
- BASF. Revysol® - Designed to Outperform. <https://agriculture.basf.com/global/en/innovations-for-agriculture/innovationfor-fungicides/revisol.html> (pristupljeno februar 2022)
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC): FRAC Code List 2022. [https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022--final.pdf?sfvrsn=b6024e9a\\_2](https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022--final.pdf?sfvrsn=b6024e9a_2) (pristupljeno februar 2022).
- Ishii, H., Bryson, P. K., Kayamori, M., Miyamoto, T., Yamaoka, Y., Schnabel, G. (2021): Cross-resistance to the new fungicide mefentrifluconazole in DMI-resistant fungal pathogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104737.
- Ishii, H., Hollomon, D. W. (2015): Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Kibi International University Minami-Awaji, Hyogo, Japan.
- Janson, G. M. (2015): Chronic toxicity of BAS 750 F to *Daphnia pulex* in a semi-static test. BASF SE, Limburgerhof, Germany (unpublished).
- Janjić, V. (2005): FITOFARMACIJA. Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd.
- Kleebaum, K. (2015a): Chronic toxicity of BAS 750 F to the honeybee *Apis mellifera* L under laboratory conditions. BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- Köller, W., Wilcox, W. F., Barnard, J., Jones, A. L., Braun, P. G. (1997): Detection and quantification of resistance of *Venturia inaequalis* populations to sterol demethylation inhibitors. *Phytopathology*, 87: 184-190.
- Li, Y., Liang, H., Ren, B., Zhao, T., Chen, H., Zhao, Y., Liang, H. (2022): Enantioselective toxic effects of mefentrifluconazole in the liver of adult zebrafish (*Danio rerio*) based on transcription level and metabolomic profile. *Toxicology*, 467, 153095.
- Marquardt, J. (2015): BAS 750 F: A test to determine the effects on non-target plants. Rheinland Pfalz AgroScience GmbH, Neustadt/Weinstrasse, Germany (unpublished).
- Sang, H., Lee, H. B. (2020): Molecular mechanisms of succinate dehydrogenase inhibitor resistance in phytopathogenic fungi. *Research in Plant Disease*, 26(1), 1-7.
- Santana, M. B., Rodrigues, K. J. A., Durán, R., Alfonso, M., Vidal, L., Campos, F., Faro, L. R. F. (2009): Evaluation of the effects and mechanisms of action of flutriafol, a

- triazole fungicide, on striatal dopamine release by using in vivo microdialysis in freely moving rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), 1565-1571.
- Scheinpflug, H. (1994): History of DMI fungicides and monitoring for resistance, In: *Fungicide Resistance in North America*, Delp, C., J. (Ed.) APS Press, The American Phytopathologica Society, St Paul, Minnesota.
- Schulz, L. (2014): Effects of BAS 750 F on the reproduction of the predatory mite *Hypoaspis aculeifer*. BioChem agrar Labor fuer biologische und chemische Analytic GmbH, Gerichshain, Germany (unpublished).
- Stević, M., Vukša, P., Elezovic, I. (2010): Resistance of *Venturia inaequalis* to demethylation inhibiting (DMI) fungicides. *Zemdirbyste-Agriculture*, 97:65-72.
- Tago, D., Andersson, H., Treich, N. (2014): Pesticides and health: a review of evidence on health effects, valuation of risks, and benefit-cost analysis. *Preference measurement in health*.
- Tesh, S.A., Tesh, J.M., Fegert, I., Buesen, R., Schneider, S., Mentzel, T., Ravenzwaay, B., Stinchcombe, S. (2019): Innovative selection approach for a new antifungal agent mefentrifluconazole (Revysol®) and the impact upon its toxicity profile. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 106, 152-168.
- Trkulja, N., Milosavljević, A., Stanisavljević, R., Mitrović, M., Jović, J. Toševski, I., Bošković, J. (2015): Occurrence of *Cercospora beticola* populations resistant to benzimidazoles and demethylation-inhibiting fungicides in Serbia and their impact on disease management. *Crop Protection* 75, 80-87.
- US EPA (2019): Mefentriflukonazole. United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA.
- US EPA (2019a): Mefentriflukonazole – Section 3; Environmental Fate and Ecological Risk Assessment. United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA.
- VanHooser, A. (2014): BAS 750 F. Acute toxicity test with the saltwater mysid, *Americamysis bahia*, determined under flow-through test conditions. ABC Laboratories Inc., Columbia MO, USA (unpublished).
- Walker, Q. D., Lewis, M. H., Crofton, K. M., Mailman, R. B. (1990): Triadimefon, a triazole fungicide, induces stereotyped behavior and alters monoamine metabolism in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 102(3), 474-485.
- Walker, C.H. (2009): *Organic pollutants: An ecotoxicological perspective*. CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA.
- Wang, S., Wang, X., He, Q., Lin, H., Chang, H., Liu, Y., Sun, H., Song, X (2023): Analysis of the fungicidal efficacy, environmental fate, and safety of the application of a mefentrifluconazole and pyraclostrobin mixture to control mango anthracnose. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103 (1), 400-410.
- Wohlfahrt-Veje, C., Boisen, K. A., Boas, M., et al. (2009): Acquired cryptorchidism is frequent in infancy and childhood. *Int J Androl* 32, 423-428.
- Xu, S., Shen, F., Song, J., Wang, Y., Yu, S., Zhang, L., Fang, H., Yu, Y. (2022): Enantioselectivity of new chiral triazole fungicide mefentrifluconazole: Bioactivity against phytopathogen, and acute toxicity and bioaccumulation in earthworm (*Eisenia fetida*). *Science of the Total Environment*, 815, 152937.

- Zhang, Y., Wu, X., Li, X., Duan, T., Xu, J., Dong, F., Zheng, Y. (2019): A fast and sensitive ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determining mefentrifluconazole in plant-and animal-derived foods. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(9), 1348-1357.
- Zhang, B., Pan, X., Yang, Y., Dong, F., Xu, J., Wu, X., Yheng, Y. (2023): Dissipation dynamics and comparative dietary exposure assessment of mefentrifluconazole in rice. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 250, 114482.
- Ziogas, B. N., Malandrakis, A. A. (2015): Sterol Biosynthesis Inhibitors: C14 Demethylation DMIs). In: Ishii H., Hollomon D. (eds.) *Fungicide Resistance in Plant Pathogens*. Springer, Tokyo.

## Abstract

### MEFENTRIFLUCONAZOLE - THE NOVEL TRIAZOLE FUNGICIDE

**Nada Milutinović, Milan Stević, Bojana Špirović Trifunović, Dragica Brkić**  
**Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet**  
Email: nadjaamilutinovic10@gmail.com

Mefentrifluconazole is a new fungicidal active substance from the isopropanol-azoles, a new sub-class of triazoles. It inhibits sterols biosynthesis and is a very selective fungicide. It is a systemic fungicide with protective, curative, and eradivative activity. Its spectrum includes important pathogens of cereals (*Septoria* spp., *Puccinia* spp., *Ramularia collo-cygni*, *Rhynchosporium secalis*). Unlike most triazoles, withdrawn from use in the last 2-3 years, mainly due to reprotoxic and carcinogenic effects, mefentrifluconazole is neither carcinogenic, nor genotoxic or reprotoxic. In addition, it is not acutely toxic, is not irritant to skin or eyes and does not cause specific toxicity to target organs after single or repeated exposure. In contact with the skin, it can cause sensitization, and this is the only toxicological property on the basis of which it is classified and labeled. Acute and chronic dietary exposure of all population groups to this active substance is low, with a large margin of safety. Mefentrifluconazole is not acutely toxic to bees and earthworms. It is very toxic acutely and chronically for aquatic organisms, fish, invertebrates, and algae, while it is toxic for sediment organisms and aquatic macrophytes. The favourable toxicological properties of mefentrifluconazole, and good efficacy in control of important pathogens, recommend this active substance as a good substitute for withdrawn triazoles.

**Key words:** mefentrifluconazole, triazoles, small grains, toxicity tests, risk